

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN(11)Publication number : **2002-146100**(43)Date of publication of application : **22.05.2002**

(51)Int.Cl.

C08L 5/00
A61K 7/00
A61K 9/70
A61K 47/34
A61K 47/36
A61L 15/44
A61M 1/16
A61P 17/16
C08L 71/02
C08L101/00
C12N 9/96

(21)Application number : **2000-344759**(71)Applicant : **NOF CORP**(22)Date of filing : **13.11.2000**

(72)Inventor : **SHIMADA KUNIO
SAKAMOTO NOBUYUKI
YANO YOSHIHIRO
FUKUDA NOBUO
SHIROI TADAHIRO**

(54) COMPOSITION FOR HYDROGEL, HYDROGEN AND USE THEREOF

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a hydrogel utilizable for various kinds of cosmetics, medicines, etc., and comprising a derivative of hydrophobic group-containing polysaccharides, to obtain a composition for the hydrogel used for producing the hydrogel, to obtain a cosmetic and a skin plaster using the hydrogel, to obtain an enzyme stabilizer and a stabilized composition, and to provide a medical tool and a clinical testing equipment having a dried film of the hydrogel.

SOLUTION: This composition for the hydrogel is characterized as comprising (A) a derivative of the hydrophobic group-containing polysaccharides soluble in an aqueous medium and (B) a polymer having hydrophobic groups represented by $-(CH_2)_q-L$ and/or $-((CH_2)_r-O)_q-L$ (wherein, L denotes hydrogen atom, methyl group or $-C_6H_5$; q denotes an integer of 1-24; and r denotes an integer of 3-5) and soluble in the aqueous medium.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2002-146100
(P2002-146100A)

(43) 公開日 平成14年5月22日 (2002.5.22)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード* (参考)
C 0 8 L 5/00		C 0 8 L 5/00	4 B 0 5 0
A 6 1 K 7/00		A 6 1 K 7/00	R 4 C 0 7 6
			G 4 C 0 7 7
			J 4 C 0 8 1
9/70	4 0 5	9/70	4 0 5 4 C 0 8 3
審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全 15 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2000-344759 (P2000-344759)

(22) 出願日 平成12年11月13日 (2000.11.13)

(71) 出願人 000004341

日本油脂株式会社
東京都渋谷区恵比寿四丁目20番3号

(72) 発明者 島田 邦男

茨城県取手市井野台4-12-6

(72) 発明者 坂元 伸行

茨城県つくば市梅園2-16-1

(72) 発明者 矢野 嘉宏

茨城県つくば市春日2-26-2

(72) 発明者 福田 信雄

茨城県つくば市梅園2-24-5

(72) 発明者 城井 忠洋

茨城県つくば市春日2-17-14

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ハイドロゲル用組成物、ハイドロゲル及びその用途

(57) 【要約】

【課題】 各種化粧品、医薬品等に利用可能な、疎水性基含有多糖類誘導体を含むハイドロゲル、該ハイドロゲルを製造するためのハイドロゲル用組成物、該ハイドロゲルを用いた化粧料及び皮膚貼付材、酵素安定化剤及び安定化組成物、並びに該ハイドロゲルの乾燥被膜を備える医療用具及び臨床検査機器を提供する。

【解決手段】 水系媒体に溶解しうる疎水性基含有多糖類誘導体 (A) と、 $-(CH_2)_q-L$ 及び/又は $-(CH_2)_r-O$ $-(CH_2)_q-L$ (ここで、Lは水素原子、メチル基又は $-C_6H_5$ を示す。qは1~24の整数を、rは3~5の整数を示す。) で示される疎水性基を有する、水系媒体に溶解しうる重合体 (B) とを含むことを特徴とするハイドロゲル用組成物。

【特許請求の範囲】

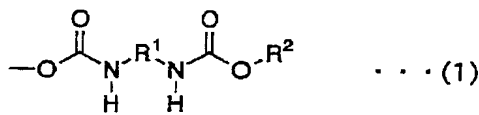
【請求項 1】水系媒体に溶解しうる疎水性基含有多糖類誘導体 (A) と、 $-(CH_2)_q-L$ 又は $-(CH_2)_r-O$ $q-L$ (ここで、L は水素原子、メチル基又は $-C_6H_5$ を示す。q は 1~24 の整数を、r は 3~5 の整数を示す。) で示される疎水性基を有する、水系媒体に溶解しうる重合体 (B) とを含むことを特徴とするハイドロゲル用組成物。

【請求項 2】疎水性基含有多糖類誘導体が、多糖類-ステロール誘導体である請求の範囲第 1 項記載のハイドロゲル用組成物。

【請求項 3】多糖類-ステロール誘導体が、多糖類を構成する糖単位 100 個あたり 0.01~20 個のステリル基を導入してなる多糖類-ステロール誘導体である請求の範囲第 2 項記載のハイドロゲル用組成物。

【請求項 4】多糖類-ステロール誘導体が、多糖類を構成する糖単位 100 個あたり、0.01~20 個の糖単位の水酸基が下記式 (1)

【化 1】



(式 (1) 中、 R^1 は炭素数 1~10 の炭化水素基を示す。 R^2 はステリル基を示す。) で表される基で置換された多糖類-ステロール誘導体である請求の範囲第 3 項記載のハイドロゲル用組成物。

【請求項 5】請求項 1~4 のいずれか 1 項記載のハイドロゲル用組成物を、水系媒体を介して混合しゲル化したハイドロゲル。

【請求項 6】ハイドロゲル内に、薬物、生体高分子及び細胞からなる群より選択される 1 種又は 2 種以上を内包してなることを特徴とする請求項 5 記載のハイドロゲル。

【請求項 7】請求項 5 又は 6 記載のハイドロゲルを含む化粧料。

【請求項 8】請求項 5 又は 6 記載のハイドロゲルを含む皮膚貼付材。

【請求項 9】請求項 5 又は 6 記載のハイドロゲルにより形成した乾燥被膜を備えることを特徴とする医療用具。

【請求項 10】請求項 5 又は 6 記載のハイドロゲルにより形成した乾燥被膜を備えることを特徴とする臨床検査機器。

【請求項 11】請求項 5 又は 6 記載のハイドロゲルを含む酵素安定化剤。

【請求項 12】請求項 5 又は 6 記載のハイドロゲル及び酵素を含む安定化酵素組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、生体適合性に優れ、各種化粧料、医薬品等に利用可能な、疎水性基含有多糖類誘導体を含有する、常温の水に実質的に溶解する性質を有するハイドロゲル、該ハイドロゲルを製造するためのハイドロゲル用組成物、該ハイドロゲルを用いた化粧料、皮膚貼付材、該ハイドロゲルの乾燥被膜を備える医療用具及び臨床検査機器、前記ハイドロゲルを含む酵素安定化剤及び安定化組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より疎水性基含有多糖類誘導体は、油脂類の乳剤として医薬品や化粧品分野などで知られていた。

[1] 特開昭 53-142540 号公報には、プルラン脂肪酸エステルを含有し、肌を刺激することなく、感触の優れた油性溶性仕上化粧料が示されている。

[2] 特開昭 63-66107 号公報には、プルランを配合してなる油相/水相型または水相/油相型の乳化型化粧料が示されている。

[3] 特開昭 63-139105 号公報には、プルランを配合することを特徴とするしわ伸ばし化粧料が示されている。

[4] 特開平 2-42011 号公報には、プルランを含有することを特徴とする厚さ 0.01~1 mm のフィルム状メーキャップ化粧料が示されている。

[5] 特開平 10-182341 号公報には、プルラン脂肪酸エステルを含有するパック化粧料が示されている。

【0003】また、特開昭 63-319046 号公報や特開平 3-292301 号公報等にも疎水性基含有多糖類誘導体を医薬品分野に用いたものが記載されている。中でも疎水性基含有多糖類誘導体の一種である多糖類-ステロール誘導体については、種々の研究がなされ、安定な高分子ミセル (マイクロハイドロゲル) を形成することが知られていた (Polymer Preprint s, Japan Vol. 47 No. 12 (1998) p 3478-3479)。しかし、このものを他の種類の合成高分子と混合し、産業上利用可能な多目的のマクロハイドロゲルを形成させることは、これまで行われていない。この疎水性基含有多糖類誘導体が、混合型のマクロハイドロゲル用組成物の構成成分として特に優れていることは、これまで知られていなかった。

【0004】疎水性基含有多糖類誘導体ではなく、多糖類を利用したハイドロゲルとしては、古くからデンプン系吸水性ポリマーを利用したものが知られている。例えば、デンプンにアクリル酸等の合成モノマーをグラフト重合して、より高分子量のポリマーとし、3次元架橋化したものが、米国農務省研究所で開発されているが、これらは長期間の保水力に欠け、水に再溶解するような機能もなかった。また、食品分野では、例えば、脱アシル

型ジェランガムが、カチオン類の存在により強固なゲルを形成する（ゲルテクノロジー、株式会社サイエンスフォーラム発行、1997年、339～346頁）ことが知られているが、これは異種高分子の会合により形成されるハイドロゲルではなく、疎水性基含有多糖類誘導体により形成されるゲルでもなかった。今日、種々の合成高分子によるハイドロゲルが、コンタクトレンズ材料や、化粧品などの原料として広く利用されている。近年、これらのハイドロゲルには、生体適合性などの物性が求められるようになり、基礎的研究が盛んである。しかし、特定の高分子と、疎水性基含有多糖類誘導体と混合させることにより、常温の水に実質的に溶解するような特徴を持つマクロハイドロゲルを形成させる試みは、全く行われていなかった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、各種生体適合性材料、化粧料及び薬剤において好ましい性質を示す疎水性基含有多糖類誘導体を含有し、実質的に水溶性であって、より安全性に優れ、しかも、薬物及び生体高分子等を内包させることが可能で、且つこれらと実質的に反応する基を有していないハイドロゲル及び該ハイドロゲルを簡便な方法で得ることができるハイドロゲル用組成物を提供することにある。本発明の別の目的は、常温の水に実質的に溶解し、他の化粧料材料や皮膚に貼付するための接着成分等と実質的に化学反応することなく、疎水性基含有多糖類誘導体の有する、保湿性等の優れた作用を備える安全性に優れた化粧料及び皮膚貼付材を提供することにある。本発明の他の目的は、血液成分不活化、生体物質非吸着性等の生体適合性に優れ、更には防汚性、保湿性等を付与することができる乾燥被膜を備える医療用具及び臨床検査機器を提供することにある。本発明の他の目的は、長期間安定に酵素活性を保持することができる酵素安定化剤及び安定化酵素組成物を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討した。従来においては、疎水性基含有多糖類誘導体を含むハイドロゲルを調製するにあたり、ハイドロゲル微粒子以外のハイドロゲルを得るには、化学的架橋構造、若しくはそれに準ずる反応性基を有している重合体を用いなければハイドロゲルを調製することができなかった。しかし水系媒体に溶解しうる疎水性基含有多糖類誘導体と、水系媒体に溶解しうる特定の重合体とを用いることによって、驚くことに、容易に、常温の水に実質的に溶解するハイドロゲルが得られることを見出した。しかも、このハイドロゲルを調製させるための組成物は、薬物及び生体高分子等と実質的に反応する基を有していないので、各種薬剤、化粧料、医療用具又は臨床検査機器に利用することにより、疎水性基含有多糖類誘導体が有する優れた生体適合性や保湿性

等を付与することができ、特に、ハイドロゲルの含水率等を調整することにより、水への溶解時間の調整も可能であることを見出し、本発明を完成した。

【0007】すなわち、本発明は次の(1)～(12)に示すものである。

(1) 水系媒体に溶解しうる疎水性基含有多糖類誘導体(A)と、 $-(CH_2)_q-L$ 及び/又は $-(CH_2)_r-O$ (ここで、Lは水素原子、メチル基又は $-C_6H_5$ を示す。qは1～24の整数を、rは3～5の整数を示す。)で示される疎水性基を有する、水系媒体に溶解しうる重合体(B)とを含むことを特徴とするハイドロゲル用組成物。

(2) 疎水性基含有多糖類誘導体が、多糖類-ステロール誘導体である前記(1)項記載のハイドロゲル用組成物。

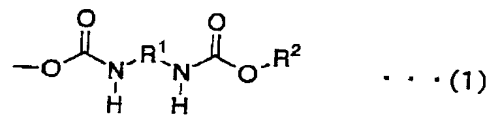
(3) 多糖類-ステロール誘導体が、多糖類を構成する糖単位100個あたり0.01～20個のステリル基を導入してなる多糖類-ステロール誘導体である前記

(2)項記載のハイドロゲル用組成物。

(4) 多糖類-ステロール誘導体が、多糖類を構成する糖単位100個あたり、0.01～20個の糖単位の水酸基が下記式(1)

【0008】

【化2】



【0009】(式(1)中、 R^1 は炭素数1～10の炭化水素基を示す。 R^2 はステリル基を示す。)で表される基で置換された多糖類-ステロール誘導体である請求の範囲第3項記載のハイドロゲル用組成物。

(5) 前記(1)～(4)項のいずれか1項記載のハイドロゲル用組成物を、水系媒体を介して混合しゲル化したハイドロゲル。

(6) ハイドロゲル内に、薬物及び生体高分子及び細胞からなる群より選択される1種又は2種以上を内包してなることを特徴とする前記(5)項記載のハイドロゲル。

(7) 前記(5)又は(6)項記載のハイドロゲルを含む化粧料。

(8) 前記(5)又は(6)項記載のハイドロゲルを含む皮膚貼付材。

(9) 前記(5)又は(6)項記載のハイドロゲルにより形成した乾燥被膜を備えることを特徴とする医療用具。

(10) 前記(5)又は(6)項記載のハイドロゲルにより形成した乾燥被膜を備えることを特徴とする臨床検

査機器。

(11) 前記(5)又は(6)項記載のハイドロゲルを含む酵素安定化剤。

(12) 前記(5)又は(6)項記載のハイドロゲル及び酵素を含む安定化酵素組成物。

【0010】

【発明の実施の形態】以下、本発明についてさらに詳細に説明する。本発明のハイドロゲルとは、常温、即ち、20～25℃の水に実質的に溶解する性質を有する、疎水性基含有多糖類誘導体を含むマクロハイドロゲルであって、各種生体適合性材料、化粧品用材料、医薬用材料等に使用することができる。ここで、常温の水に実質的に溶解する性質とは、常温の水に不溶となる化学的架橋構造(化学架橋反応して形成された構造)を有さず、ハイドロゲルを常温の水に浸漬させた状態で、その含有率や構成重合体の種類等にもよるが、約8～96時間程度で、常温の水に溶解することを言う。この際、溶解とは、媒質中にハイドロゲルが溶出し、ゲルが均一な液体となる状態を意味する。

【0011】本発明のハイドロゲルを形成するためのハイドロゲル用組成物は、特定の疎水性基含有多糖類誘導体(A)と、特定の重合体(B)とを含む組成物の組合わせにより構成される。

【0012】上記特定の疎水性基含有多糖類誘導体

(A)とは、一般に疎水性基含有多糖類誘導体と見なされるものであり、多糖類に疎水性基を導入して得られる疎水性基含有多糖類誘導体のうち、水系溶媒に溶解しうるものをいう。水系媒体に溶解しうるとは、例えば、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、N、N-ジメチルホルムアミド、N、N-ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド、グリセリン、アセトニトリル、アセトン等の水性有機質媒質又はこれらの混合物を水に混合した液体；塩化ナトリウム、塩化カルシウム、リン酸、ホウ酸又はこれらの2種以上を組合せた塩水溶液等の水系媒体、好ましくは常温の水等に、溶質を5重量%濃度に溶解させた際に流動性の高い液体の状態となることを意味する。以下に説明する他の成分において、「水系媒体に溶解しうる」と言うときは、同様な意味で用いる。

【0013】それらの水系媒体に溶解しうる疎水性基含有多糖類誘導体(A)のうち好ましいものは、多糖類の一部を疎水性基に置換して得た疎水性基含有多糖類誘導体である。そのような疎水性基含有多糖類誘導体の原料として、プルラン、アミロース、キシログルカン、アミロペクチン、デキストラン、デキストリン、シクロデキストリン、マンナン、ヒドロキシエチルデキストラン、レバン、イヌリン、キチン、キトサン、水溶性セルロース等の多糖類が考えられる。多糖類は天然のものであっても合成品であってもよい。疎水性基を化学結合してなる疎水性基含有多糖類誘導体があり、入手性の点から、

これらを本発明に好ましく使用できる。

【0014】例えば特開平10-29910号公報に用いられているシリコン化多糖類や、特開平10-182341号公報及び特開昭53-142540に用いられているプルラン脂肪酸エステル、特開昭63-66107号公報に用いられているデキストラン脂肪酸エステル、登録特許第3045168号公報に用いられている多糖類と脂肪酸のエステル又はアミド、更に特開平2-144140号公報や、特開昭63-319046号公報、特開平3-292301号公報などに開示されている多糖類-ステロール誘導体などを本発明でいう疎水性基含有多糖類誘導体の一種として好ましく用いることができる。これらのもののうちでは、多糖類-ステロール誘導体が疎水性基含有多糖類誘導体として取扱いが容易であり、入手性の点から最も好ましい。

【0015】本発明で用いられる多糖類-ステロール誘導体は、多糖類に適当な分子を介してステロールを化学結合により導入してなるものであり、一般に多糖類-ステロール誘導体に分類されるものであり水系媒体に溶解しうるものであるならば、いかなるものでも使用できる。多糖類はグリコース(glycose)がポリグリコシル化した高分子化合物であれば特に限定されない。多糖類の具体的なものとしては、プルラン等疎水性基含有多糖類誘導体の原料として記載したものが挙げられる。

【0016】ステロールはシクロペンタノペルヒドロフェナントレン骨格、コレステロール骨格、これらの誘導体、またはこれらの骨格と密接に関連した構造を持つアルコールであれば特に限定されない。ステロールの具体的なものとしては、コレステロール、スチグマステロール、 β -シトステロール、ラノステロール及びエルゴステロールなどが挙げられる。多糖類-ステロール誘導体としては、例えば特開平2-144140号公報、特開昭63-319046号公報及び特開平3-292301号公報などに開示されている多糖類-ステロール誘導体を好ましく使用することができる。本発明にもちいられる多糖類-コレステロール誘導体の製造方法としては、公知の化学知識を用いて適宜工夫して合成したものをを用いることができるが、特開平3-292301号公報に記載される方法により製造したものをを用いるのが好ましい。より好ましい多糖類-コレステロール誘導体は、合成のしやすさなどの点から、多糖類を構成する糖単位100個当たり、0.01～20個、好ましくは0.05～15個、さらに好ましくは0.1～10個の糖単位の水酸基が前記式(1)で表される基で置換された多糖類-ステロール誘導体である。

【0017】前記式(1)において、R¹は炭素数1～10の炭化水素基であり、2価の炭化水素基であれば直鎖状、分岐鎖状または環状のいずれであってよく、また飽和であっても不飽和であってもどちらでもよいが、炭

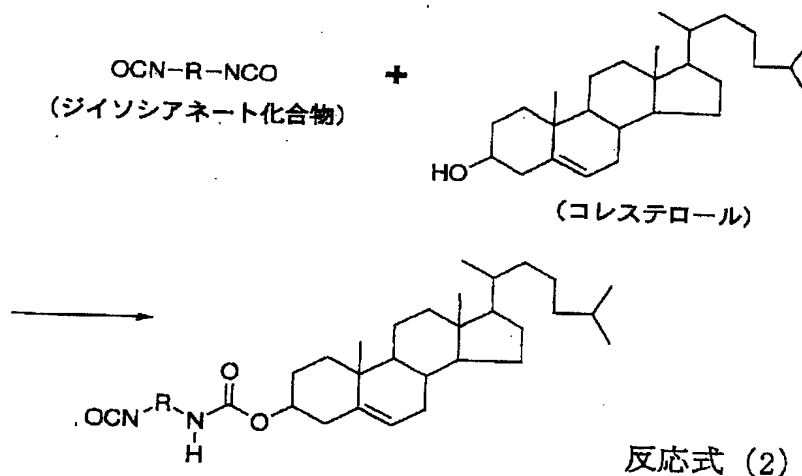
素数 3～8 の直鎖状飽和炭化水素基が最も好ましい。前記式 (1) において、 R^2 はステリル基 (ステロールの残基) であり、例えばコレステリル基 (コレステロール残基)、スチグマステリル基 (スチグマステロール残基)、 β -シトステリル基 (β -シトステロール残基)、ラノステリル基 (ラノステロール残基)、及びエルゴステリル基 (エルゴステロール残基) などが挙げられる。これらの中では入手性の点からは、コレステリル基 (コレステロール残基) が最も好ましい。

*

【0018】この様な多糖類-ステロール誘導体は、分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物と、多糖類の水酸基とを反応させることにより合成することができる。分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物は、例えば下記の反応式 (2)

【0019】

【化3】



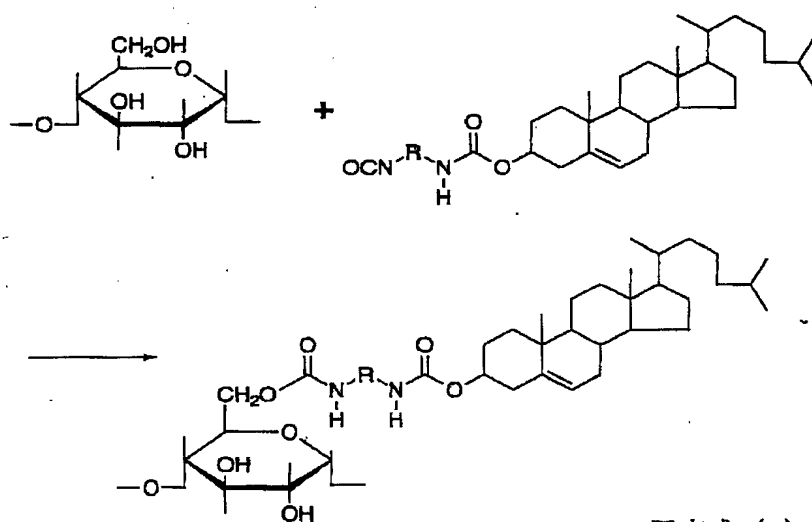
【0020】に示されるように、ジイソシアネート化合物の一端のイソシアナト基を、ステロールの水酸基と反応させ、ウレタン結合により両者を結合させることにより得られる。このとき、ジイソシアネート化合物との反応に用いられるステロールとしては、例えばコレステロール、スチグマステロール、 β -シトステロール、ラノステロール及びエルゴステロールなどが用いられ、入手性の点からコレステロールが好ましく用いられる。

【0021】ステロールと反応させるジイソシアネート化合物は $\text{OCN}-R-\text{NCO}$ で表される化合物である。例えば、 R がエチレン基であるエチレンジイソシアネート、ブチレン基であるブチレンジイソシアネート、ヘキ

サメチレン基であるヘキサメチレンジイソシアネート、及びジフェニルメタン基であるジフェニルメタレンジイソシアネートなどが挙げられる。これらの中ではブチレンジイソシアネート及びヘキサメチレンジイソシアネートなどが好ましい。本発明に好ましく用いられる多糖類-ステロール誘導体は、上記の分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物を、多糖類と反応させることにより得ることができる。分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物と、多糖類との反応は、例えば下記の反応式 (3)

【0022】

【化4】



(多糖類-コレステロール誘導体)

反応式 (3)

【0023】に示される様に、多糖類を構成する単糖の水酸基と、分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物の持つイソシアナト基との1ステップ付加反応で行うことができる。反応式(3)には、1つの六単糖ユニットと、イソシアナト基を有する化合物との反応がモデルとして示されているが、本発明に用いられる多糖類-ステロール誘導体の合成においては、多糖類を構成する糖単位100個当たり、0.01~20個、好ましくは0.05~15個、さらに好ましくは0.1~10個の糖単位の水酸基に対して、反応式

(3)に示される様な反応を生じせしめるのが、ハイドロゲルを形成しやすくする上で好ましい。上記反応に用いられる多糖類としては、多糖類であればいかなるものを用いることも可能であるが、特にプルラン等疎水性基含有多糖類誘導体の原料として記載したものが挙げられる。これらの多糖類は、天然または合成由来のものであってよく、入手が可能なものであるならば分子量などはいかなるものであってもよいが、ハイドロゲル用組成物とした際に、より特徴を発揮するためには重量平均分子量10000~100000程度、好ましくは30000~50000のものが多い。また、多糖類の種類としては、入手性及びハイドロゲルの形成しやすさの点から、特にプルランが好ましく用いられる。

【0024】多糖類と、分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物との反応を行う場合に用いられる溶媒としては、分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物及び多糖類の両方が溶解し、かつ反応生成物である多糖類-ステロール誘導体が溶解する溶媒が好ましく、通常、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ホルムアミド、ジオキサン、テトラヒドロフランなどの非プロトン性溶媒等が好ましく用いられる。このときの反応温度及び時間は用い

られる多糖類及び溶媒などに応じて反応の進行状態により適宜選択されるが、好ましくは0~200℃で1~48時間程度反応させるのがよい。

【0025】多糖類と、分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物との仕込比はいかなる比率でもよく、この仕込比を変化させることにより多糖類に対するステリル基の導入量を適宜制御することができる。多糖類を構成する糖単位100個当たり0.01~20個のステリル基を導入する場合には、多糖類の100単糖単位に対して、分子の一端にステリル基と他端にイソシアナト基を有する化合物を0.01~30分子の割合で仕込むのが好ましい。この様にして得られる多糖類-ステロール誘導体の精製方法としては、再沈殿精製法、各種クロマトグラフィーによる分離精製法及び透析法などが利用できる。また乾燥方法としては凍結乾燥法、または真空乾燥法が望ましい。

【0026】本発明に用いられる多糖類-ステロール誘導体は、多糖類-ステロール誘導体であるならば上記の製造方法に限らず、いかなる製造方法によって得られたものであっても用いてよい。それらの場合でも、ハイドロゲルの形成し易さなどの点から、多糖類を構成する糖単位100個当たり0.01~20個、好ましくは0.05~15個、さらに好ましくは0.1~10個のステリル基が導入された多糖類-ステロール誘導体が望ましい。疎水性基の導入数が、多糖類100単糖当たり0.01個未満の場合、ハイドロゲルが形成しにくくなり、20個より多い場合は、疎水性基によりゲル化して水系溶媒に溶解し難くなる場合がある。更には、多糖類部分がプルランであるプルラン-ステロール誘導体が、入手性の点から最も好ましい。本発明で使用される多糖類-ステロール誘導体の分子量は特に限定されないが、ハイドロゲル用組成物とした際に、より特徴を発揮するため

には重量平均分子量10000~100000程度、好ましくは30000~50000程度のものがよい。

【0027】以上のようにして得られる、特定の疎水性基含有多糖類誘導体(A)を本発明に好ましく用いることができるが、特に原料の多糖類としてプルランを用い、疎水性基であるコレステロールを、プルランを構成する糖単位100個当たり、0.1~10個程度導入して得たプルラン-コレステロール誘導体(以下、CHPと略す。)が、製造のしやすさなどの点から最も好ましく用いられる。

【0028】本発明に用いられる上記特定の重合体(B)は、 $-(CH_2)_q-L$ 及び/又は $-(CH_2)_r-O$ $q-L$ (ここで、Lは水素原子、メチル基又は $-C_6H_5$ を示す。 q は1~24の整数を、 r は3~5の整数を示す。)で示される疎水性基を有する、水系媒体に溶解しうるものである。例えば、ランダム状、ブロック状あるいはグラフト状の高分子が考えられる。重合体(B)の分子量は、水系媒体に溶解しうるものであれば特に限定されず、通常、重量平均分子量10000~50000程度から適宜決定することができる。

【0029】上記重合体(B)が必須に有する疎水性基としては、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、エチルヘキシル基、ラウリル基、ステアシル基等のアルキル基;フェニル基、ベンジル基、フェノキシ基等の芳香族官能基が挙げられる。その他に、例えばグラフト状重合体の側鎖としては、ポリプロピレンオキシ基、ポリテトラメチレンオキシ基等のアルキレンオキシ基等の疎水性基も挙げることができる。このような疎水性基を有する重合体(B)としては、前記した通り $-(CH_2)_q-L$ 及び/又は $-(CH_2)_r-O$ $q-L$ で示される疎水性基を有する、水系媒体に溶解しうる重合体であれば、市販のもの、若しくは高分子化学の知識に基づき屈指して得られるいかなる重合体であってもよいが、具体的には例えば、メタクリル酸単独重合体、アクリル酸-アクリル酸アミド-アクリル酸エチル共重合体、アクリル酸-メタクリル酸ブチル共重合体、メタクリル酸-メタクリル酸ステアシル共重合体、ポリエチレングリコール-ポリプロピレングリコールブロック共重合体、ビニルピロリドン-スチレン共重合体、メチルセルロース、プロピルセルロース、2-メタクリロイルオキシエチル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート単独重合体、さらにはポリプロピレングリコールモノメタクリレート-メタクリル酸、ポリテトラメチレングリコールモノメタクリレート-メタクリル酸等のランダム状重合体、等の重合体が挙げられる。

【0030】上記の組成物において、疎水性基含有多糖類誘導体(A)と、重合体(B)との組合せとしては、例えば、CHPとメタクリル酸単独重合体、CHPとアクリル酸-アクリルアミド-アクリル酸エチル共重

合、CHPとアクリル酸-メタクリル酸ブチル共重合体、CHPとアクリル酸-メタクリル酸ステアシル共重合体、CHPとポリエチレングリコール-ポリプロピレングリコールブロック共重合体、CHPとビニルピロリドン-スチレン共重合体、CHPとアクリル酸-プロピルセルロース、CHPと2-メタクリロイルオキシエチル-2'-(トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート単独重合体等が好ましく挙げられ、ゲル化のし易さなどの点からCHPとポリエチレングリコール-ポリプロピレングリコール共重合体の組み合わせが好ましく例示される。上記の組成物において、疎水性基含有多糖類誘導体(A)と、重合体(B)との配合割合は、後述する方法等によりハイドロゲルが形成できる割合であれば特に限定されないが、好ましくは、疎水性基含有多糖類誘導体(A):重合体(B)が質量比で、1:1.5~15:1、特に好ましくは1:5~5:1である。疎水性基含有多糖類誘導体(A)と、重合体(B)とは、各々粉末等の固体状態でも良く、また各々別々に水系媒体、特に水に溶解した溶液状態であっても良い。溶液状態とする場合の濃度は溶解状態であれば特に限定されないが、水系媒体に対する濃度が極端に低い場合には、ハイドロゲルが形成されない恐れがあるので、0.5~70重量%程度が好ましい。上記の組成物は、疎水性基含有多糖類誘導体(A)及び重合体(B)の他に、ハイドロゲルの用途等に応じて、ハイドロゲルの形成を損なわない限り他の成分を含んでいても良い。

【0031】本発明のハイドロゲルは、上記ハイドロゲル用組成物を水系媒体を介して混合しゲル化した、常温の水に実質的に溶解する性質を有するゲルである。また、本発明のハイドロゲルは、好ましくは90℃以上に加熱するか、若しくは水系媒体に再溶解することにより溶解状態に戻すことができ、冷却することにより再度ゲル化させることができる。本発明のハイドロゲルの強度の調整は、例えば、ハイドロゲルを乾燥させ、含水率を低下若しくは完全に乾燥させた後、再度水系媒体に膨潤させる操作を繰り返すことにより行うことができる。本発明のハイドロゲルの含水率は、特に限定されず、用途に応じて適宜選択できるが、通常、0.5~70重量%である。

【0032】上記水系媒体を介して混合しゲル化する方法としては、例えば、組成物の各必須成分、具体的には、

1、疎水性基含有多糖類誘導体(A)と重合体(B)とをそれぞれ上述した水系媒体等に別々に適量溶解しておき、これらの水溶液を常温等で混合しゲル化させる方法、

2、疎水性基含有多糖類誘導体(A)と重合体(B)とをそれぞれ粉末状態等の固体状で予め混合し、この混合物に上述の水系媒体等を加えて常温等で混合しながらゲル化する方法、

3、疎水性基含有多糖類誘導体(A)と重合体(B)とをそれぞれ上述した水系媒体等に別々に希釈率を高くして溶解しておき、これらを混合しても流動化してゲルが形成されない溶液を調製し、該溶液を濃縮しながらゲル化させる方法等が挙げられる。上記、1の方法において、混合によりそのままハイドロゲルを得る場合の各溶液の適量濃度は、常温において、各成分が0.5~75重量%となるように水系媒体に溶解した溶液を用いることが、均一なハイドロゲルの調製が容易になることから好ましい。

【0033】本発明のハイドロゲルには、該ハイドロゲルに反応しない成分等を含有させることができる。例えば、消毒剤、抗菌剤、抗ウイルス剤、止血剤、消炎剤、麻酔剤、鎮痛剤、栄養剤等の薬物；ペプチド、血漿製剤蛋白質、酵素、核酸関連物質等の生体高分子；各種生体由来物又はこれらの混合物等をハイドロゲルに内包させることができる。つまり、ハイドロゲルに反応しない成分を、ハイドロゲルと複合した組成物とし、当該成分を安定化させたり、保護したりすることができる。なお、このような複合した組成物は、具体的には例えば、

ハイドロゲルをゲル化させるための水系媒体に、予め当該成分を溶解、懸濁等しておき、続いてゲル化を行うことにより形成することができる。本発明のハイドロゲルは、常温の水に実質的に溶解するので、上記薬物、生体高分子、細胞の保存安定剤、生体由来物の保存安定剤、生体内デリバリーシステム用担体、体内挿入用カプセル等として使用できる。これらの成分の配合割合は、その目的や用途に応じて適宜決定することができる。

【0034】本発明の化粧品及び皮膚貼付材は、上記ハイドロゲル及び各種成分が含有されたハイドロゲルを含んでおれば良く、その種類及び目的に応じて、通常、化粧品、又は皮膚貼付材に使用される材料を含ませることができる。化粧品は、例えば、乳液、クリーム、ヘアクリーム、リキッドファンデーション等の乳化化粧品に配合したり、化粧水、美容液、整髪料等の液状化粧品に配合したり、パウダーファンデーション、アイシャドウ等の練状又は固形化粧品に配合したり、リンス、洗顔クリーム等の洗浄剤に配合したり、ピールオフ型液状パック、フェイスマスク等のパック剤へ使用したりできる。また、クレンジングフォーム、ジェル、エッセンス等の化粧品に用いることもできる。特に、クリーム、エッセンス等の乳化状態の化粧品に本発明のハイドロゲルを水相中に含めることにより、W/O、W/O/W、O/Wの種々の乳化状態を安定に保つ効果もある。乳化状態の化粧品に本発明のハイドロゲルを配合するには、本発明のハイドロゲルを形成させた後にホモジナイザー等で乳化状態へ移行させても良いし、ハイドロゲルを構成するポリマーを別々に添加した後、乳化させる過程でハイドロゲルを形成させても良い。前記ハイドロゲルを化粧品又は皮膚貼付材に含有させる場合の配合割合や含水率、

更に形態は、その種類や目的等に応じて適宜選択することができる。

【0035】本発明の医療用具及び臨床検査機器は、上記ハイドロゲル及び各種成分が含有されたハイドロゲルにより形成した乾燥被膜を備える。このような乾燥被膜を調製するには、例えば、ハイドロゲルを加熱、若しくは水系媒体に再溶解することによりゲルを溶液状態にした後、該溶液を膜状に形成し乾燥させる方法等により乾燥被膜を得ることができる。ハイドロゲルを溶液状態とする際の加熱条件は、ハイドロゲルの種類に応じて適宜選択できるが、通常90℃以上に加熱することにより溶液状態とすることができる。該溶液を膜状に形成し乾燥するには、膜状に形成し、冷却することにより膜状のハイドロゲルが得られるので、該膜状のハイドロゲルを通常の乾燥操作等を利用して乾燥させることができる。例えば、含有される各種重合体成分を維持するために、乾燥は、60~150℃の範囲で行うことが好ましい。乾燥被膜の含水率は、通常、0~95%程度であり、その膜厚は特に限定されず、通常、0.1μm~5mmの範囲とすることができる。このような乾燥被膜は、上記ハイドロゲルに比して常温の水に溶解する速度が極端に遅延するが、基本的には時間を要すれば常温の水に溶解するものである。

【0036】本発明の医療用具及び臨床検査機器は、所望面に上記ハイドロゲルの乾燥被膜を形成することにより、ハイドロゲルの有する各種機能、例えば、防汚性、保湿性等を付与することができる。このような機能が必要とされる医療用具としては、例えば、血液透析膜、皮下埋込型センサー等が挙げられる。一方、このような機能が必要とされる臨床検査機器としては、例えば、試験管、採尿容器、タンパク質保存容器、臨床検査用プレート等が挙げられる。

【0037】本発明の酵素安定化剤は、上記ハイドロゲルを含んでなる。本発明の酵素安定化剤は、酵素とハイドロゲルとを共存させ、以下に述べる安定化酵素組成物とすることにより、長期間安定に酵素活性を保持することができる。本発明の安定化酵素組成物は、上記ハイドロゲル及び酵素を含んでなる。前記酵素としては、特に限定されず、安定化することにより便利に用いることができる各種の酵素を挙げることができる。具体的には例えば、酸化還元酵素、転移酵素、加水分解酵素、脱離酵素、異性化酵素、及び合成酵素を挙げることができる。前記酸化還元酵素としては、グルコースオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)等を挙げることができ、転移酵素としては、コリンアセチルトランスフェラーゼ、アスパラレートアミノトランスフェラーゼ等を挙げることができ、加水分解酵素としては、カルボヒドラーゼ、エステラーゼ、プロテアーゼ、アミラーゼ等を挙げることができ、脱離酵素としては、アルドラーゼ、ハイドラーゼ等を挙

げることができ、異性化酵素としては、グルコースホスフエートイソメラーゼ、グルコースイソメラーゼ等を挙げることができ、合成酵素としては、 t -RNAシンセターゼ、アセチルCoAシンセターゼ等を挙げることができる。

【0038】本発明の安定化酵素組成物中の前記酵素の含有割合は、 10^{-10} ～10重量%、好ましくは 10^{-7} ～1重量%とすることができる。前記酵素の含有割合を10重量%以上とすることにより、ハイドロゲルによる安定化作用を良好に得ることができ、またゲルの強度を維持することができる。本発明の安定化酵素組成物中の前記ハイドロゲルの含有割合は、前記ハイドロゲル用組成物として、0.5～70重量%、好ましくは1～50重量%とすることができる。前記ハイドロゲルの含有割合を0.5重量%以上とすることにより、ハイドロゲルによる安定化作用を良好に得ることができ、また70重量%以下とすることにより、酵素の活性を良好に発現させることができる。

【0039】本発明の安定化酵素組成物を製造する方法は、特に限定されないが、例えば、前記酵素が溶解した溶液を水系媒体として用いてハイドロゲル用組成物をゲル化させハイドロゲルを形成することにより製造することができる。より具体的には例えば、前記酵素及び本発明のハイドロゲル用組成物の構成要素である重合体を含む溶液中に、本発明のハイドロゲル用組成物の他の構成要素である重合体を添加し、溶液中でハイドロゲルを形成することにより、ハイドロゲル内に酵素が内包された、酵素活性の安定性に優れる安定化酵素組成物を得ることができる。本発明のハイドロゲル用組成物は、 $-(CH_2)_q-L$ 及び／又は $-(CH_2)_r-O$ で示される疎水性基を有する、実質的に化学的架橋構造を形成する反応性基を有していない特定の重合体及び疎水性基含有多糖類誘導体を含むので、実質的に水溶性であって、安全性に優れ、しかも、薬物、生体高分子及び細胞等を内包させることが可能なハイドロゲルの原料として有用である。また、本発明のハイドロゲルは、上記組成物を水系媒体を介して混合するという簡便な方法で得ることができ、疎水性基含有多糖類誘導体の有する優れた保湿性等を備え、且つ常温の水に実質的に溶解するので、各種化粧品、皮膚貼付材等の材料として有用である。

【0040】更に、本発明の医療用具及び臨床検査機器は、上記ハイドロゲルの乾燥被膜を備えるので、ハイドロゲルの有する各種特性が備えられており、生体適合性に優れ、更には防汚性、保湿性等にも優れる。更に、本発明の酵素安定化剤は、上記ハイドロゲルを含むので、酵素をその中に内包することができ、酵素の安定性を高めることができる。更に、本発明の安定化酵素組成物は、上記ハイドロゲル及び酵素を含むので、酵素がハイドロゲルに内包された形態をとることができ、安定性の

高い酵素製剤として用いることができる。

【0041】

【発明の効果】本発明のハイドロゲル用組成物は、実質的に化学的架橋構造を形成する反応性基を有していない特定の重合体及び疎水性基含有多糖類誘導体を含むので、実質的に水溶性であって、安全性に優れ、しかも、薬物、生体高分子、及び生体由来物を内包させることが可能なハイドロゲルの原料として有用である。また、本発明のハイドロゲルは、上記組成物を水系媒体を介して混合するという簡便な方法で得ることができ、疎水性基含有多糖類誘導体の有する優れた保湿性等を備え、且つ常温の水に実質的に溶解するので、各種化粧品、皮膚貼付材等の材料として有用である。また、本発明のハイドロゲルを、特に洗浄用の化粧品に用いた場合、疎水性基含有多糖類誘導体が洗浄後においても皮膚表面に残留し、高い保湿性を発揮する。更に、本発明の医療用具及び臨床検査機器は、上記ハイドロゲルの乾燥被膜を備えるので、ハイドロゲルの有する各種特性が備えられており、防汚性、保湿性等に優れる。

【0042】

【実施例】以下、実施例により本発明を更に詳細に説明する。

参考例1

<N-(6-イソシアナートヘキシル) コレステルカルバメートの合成> 1Lのナス型フラスコに、コレステロール25g (0.065mol)、トルエン300mLを入れて溶かし、さらにトリエチルアミン17mL (0.12mol)を加えた。そこへ、トルエン300mLに溶かしたヘキサメチレンジイソシアナート161g (0.96mol)を入れ、窒素雰囲気下、80℃で約6時間反応させた。反応終了後、トルエンと過剰のヘキサメチレンジイソシアナートを減圧除去した。得られた黄色オイル状の残さを室温で一晩放置することにより、淡黄色の結晶が生成した。結晶を取り出し、約1Lのヘキサンを加え、激しく振とうした後、上澄み液をデカンテーションにより除去した。この洗浄操作を計4回行った後、室温で3時間減圧乾燥することにより白色の固体を得た。収量は18.25g、収率は50.9%であった。得られた生成物のIRの測定結果を示す。

IR (KBr, cm^{-1}): 3260、2320、1680、1130。

以上より、N-(6-イソシアナートヘキシル) コレステルカルバメートが得られたことを確認した。

【0043】合成例1：<CHPO.9の合成>

1Lのナス型フラスコに、プルラン（平均分子量、108000、和光純薬社製）40gとジメチルスルホキシド420mLを加え、窒素雰囲気下80℃でかき混ぜ溶解させた。そこへ参考例1で合成した、N-(6-イソシアナートヘキシル) コレステルカルバメート1.78g (3.21mmol)をピリジン32.4mL

(0.40mol) に溶かした溶液を入れ、90℃で1.5時間反応させた。反応終了後、ジメチルスルホキシドを減圧除去し、得られたオイル状の残さをアセトン6Lに滴下して沈殿を生成させた。上澄み液を除去後、得られた沈殿にアセトン4Lを加え、室温で一晩放置した。沈殿を濾別採取した後、減圧乾燥した。得られた固体をジメチルスルホキシドに溶かし、これを透析膜(スペクトロポア社製、Spectra/Por 3、分画分子量:3500)に充填し、蒸留水に対して一週間透析した。得られたポリマー溶液1.5Lを常法により凍結乾燥することによって、白色の固体を得た。収量31.7g(収率76.2%)。次に、生成物の¹H-NMRとIRの測定結果を示す。¹H-NMR(δ ppm)、DMSO-d₆/D₂O=20/1, vol, TMS): 0.68-2.40, 2.60-4.60, 4.60-5.05。IR(KBr, cm⁻¹): 1680, 1180-900。また¹H-NMRスペクトルより、コレステロール基由来のピーク面積(δ =0.6~2.3)及びプルラン由来のピーク面積(δ =4.7~5.1)から、100単糖当たりのコレステロール基の置換度を計算により算出した。その結果、100単糖当たりのコレステロール基の置換度は0.9個であった。以上のデータから、得られた化合物がプルラン100単糖当たり0.9個のコレステリル基を導入したプルラン-コレステロール誘導体(Chp0.9と略す。)であることを確認した。

【0044】合成例2:<Chp0.1の合成>

合成例1と同じ反応操作により、N-(6-イソシアナトヘキシル)コレステリルカルバメイトの仕込み量のみを0.198g(0.357mmol)にかえて、Chp0.1を合成した。¹H-NMRスペクトルより、コレステロール基由来のピーク面積及びプルラン由来のピーク面積から、100単糖当たりのコレステロール基の置換度を計算により算出した。その結果、100単糖当たりのコレステロール基の置換度は0.1個であった。プルラン100単糖当たり0.1個のコレステリル基を導入したプルラン-コレステロール誘導体をChp0.1と略す。

【0045】合成例3:<Chp0.05合成>

合成例1と同じ反応操作により、N-(6-イソシアナトヘキシル)コレステリルカルバメイトの仕込み量のみを0.099g(0.178mmol)にかえて、Chp0.05を合成した。¹H-NMRスペクトルより、コレステロール基由来のピーク面積及びプルラン由来のピーク面積から、100単糖当たりのコレステロール基の置換度を計算により算出した。その結果、100単糖当たりのコレステロール基の置換度は0.05個であった。プルラン100単糖当たり0.05個のコレステリル基を導入したプルラン-コレステロール誘導体をChp0.05と略す。

【0046】合成例4:<Chp10の合成>

合成例1と同じ反応操作により、N-(6-イソシアナトヘキシル)コレステリルカルバメイトの仕込み量のみを29.7g(53.6mmol)にかえて、Chp10を合成した。¹H-NMRスペクトルより、コレステロール基由来のピーク面積及びプルラン由来のピーク面積から、100単糖当たりのコレステロール基の置換度を計算により算出した。その結果、100単糖当たりのコレステロール基の置換度は10個であった。プルラン100単糖当たり10個のコレステリル基を導入したプルラン-コレステロール誘導体をChp10と略す。

【0047】合成例5:<Chp15の合成>

合成例1と同じ反応操作により、N-(6-イソシアナトヘキシル)コレステリルカルバメイトの仕込み量のみを49.5g(89.3mmol)にかえて、Chp15を合成した。¹H-NMRスペクトルより、コレステロール基由来のピーク面積及びプルラン由来のピーク面積から、100単糖当たりのコレステロール基の置換度を計算により算出した。その結果、100単糖当たりのコレステロール基の置換度は15個であった。プルラン100単糖当たり15個のコレステリル基を導入したプルラン-コレステロール誘導体をChp15と略す。

【0048】合成例6:<Chmの合成>

合成例1と同じ反応操作により、プルランをマンナン(平均分子量、85000、シグマ社製)26.2gにかえ、N-(6-イソシアナトヘキシル)コレステリルカルバメイトの仕込み量を1.08g(1.95mmol)、ピリジンの仕込み量を19.6mL、ジメチルスルホキシドの仕込み量を320mLにかえて、21.5gのマンナン-コレステロール誘導体を合成した。生成物の¹H-NMRとIRの測定から、得られた化合物がマンナン-コレステロール(Chmと略す。)であることを確認した。¹H-NMRスペクトルより、コレステロール基由来のピーク面積及びマンナン由来のピーク面積から、100単糖当たりのコレステロール基の置換度を計算により算出した。その結果、100単糖当たりのコレステロール基の置換度は0.9個であった。マンナン100単糖当たり0.9個のコレステリル基を導入したマンナン-コレステロール誘導体をChmと略す。

【0049】合成例7:<TSPの合成>

プルラン(平均分子量、108000、和光純薬社製)10gをN-メチルピロリドン300mLに溶解し、触媒としてトリエチルアミン0.01gを加え、トリストリメチルシロキシシリルプロピルイソシアネート0.7gを滴下し、100℃で2時間反応させた。反応液をアセトンに注ぎ、生じた析出物をメタノールで洗浄し、乾燥して、トリストリメチルシロキシシリルプロピルカルバミド酸プルラン50gを得た。なお、この生成物のプルラン100単糖当たりのトリストリメチルシロキシシリルプロピル基の置換度を、元素分析値をもとに計算し

たところ、1. 7個であった。プルラン100単糖当たり1. 7個のトリストリメチルシロキシシリルプロピル基を導入したトリストリメチルシロキシシリルプロピルカルバミド酸プルランをTSPと略す。

【0050】実施例1-1：<CHP0. 9と(PEG-PPG)ブロック共重合体からなるハイドロゲルの調製>

合成例1で合成したCHP0. 9を水に溶解させて得た5重量%のCHP0. 9水溶液10gと、2重量%の(ポリエチレングリコール-ポリプロピレングリコール) (以下、PEG-PPGと略す。) ブロック共重合体水溶液 {共重合体：ユニループ70DP950B (商品名、日本油脂株式会社製、重量平均分子量12860、EO/POモル比=200/70)} 10gとからなるハイドロゲル用組成物を調製した。得られた組成物を、50mLのガラス容器中において十分混和して無色透明の均一なハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルについて、以下に示す、混合後の状態評価、加熱による再流動化評価、並びに水中での溶解性評価を行っ*

表1

*た。結果を表1に示す。

【0051】1. 混合後の状態評価

混合後10分間静置し、容器を90°傾けた際の流動性の有無を目視で確認した。

2. 加熱による再流動化評価

得られたハイドロゲルを90℃に加熱した際に流動化し、更に常温に戻すことにより10分より少ない時間で再ゲル化するものを○、ハイドロゲルを90℃に加熱した際に流動化し、更に常温に戻し10分～5時間で再ゲル化するものを△、ハイドロゲルを90℃に加熱した際に流動化しないか、若しくは常温に戻し5時間より後でも再ゲル化しないものを×とした。

3. 水中での溶解性評価

得られたハイドロゲルを室温にて500gの純水中に放置し、24時間後に溶解しているものを○、24時間では溶解しないが3箇月後に溶解しているものを△、3箇月より日数を経ても溶解しないものを×とした。

【0052】

【表1】

	組成物	a : bの 質量比	混合後 の状態	90℃加熱に よる再流動化	水中での 溶解性
実施例1-1	a : CHP0.9 b : PEG-PPG	5 : 2	ゲル化	○	○
実施例1-2	a : CHP0.1 b : PEG-PPG	5 : 2	ゲル化	○	○
実施例1-3	a : CHP0.05 b : PEG-PPG	5 : 2	ゲル化	△	○
実施例1-4	a : CHP10 b : PEG-PPG	2 : 1	ゲル化	○	○
実施例1-5	a : CHP15 b : PEG-PPG	5 : 2	ゲル化	○	△
実施例1-6	a : CHM b : PEG-PPG	5 : 2	ゲル化	△	△
実施例1-7	a : TSP b : PEG-PPG	5 : 2	ゲル化	×	△
実施例1-8	a : CHP0.9 b : MTE	5 : 2	ゲル化	○	○
比較例1-1	a : CHP0.9 b : PEG	2 : 1	変化なし	—	—
比較例1-2	a : プルラン b : PEG-PPG	5 : 2	変化なし	—	—
比較例1-3	a : CHP0.9 b : PAA	5 : 2	不均一	×	×

【0053】ここで、表中に用いた略号を示す。PEG-PPG：(ポリエチレングリコール-ポリプロピレングリコール)ブロック共重合体(分子量12860)、MTE：2-メタクリロイルオキシエチル-2'- (トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート単独重合体(分子量1030000)、PEG：ポリエチレングリコール10000(分子量10000)、PAA：アクリル酸単独重合体(分子量1000000)。

【0054】実施例1-2：<CHP0.1と(PEG-PPG)ブロック共重合体からなるハイドロゲルの調製>

CHP0.9を、合成例2で得られたCHP0.1に換えた以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0055】実施例1-3：<CHP0.05と(PEG-PPG)ブロック共重合体からなるハイドロゲルの調製>

CHP0.9を、合成例3で得られたCHP0.05に換えた以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0056】実施例1-4：<CHP10と(PEG-PPG)ブロック共重合体からなるハイドロゲルの調製>

ハイドロゲル用組成物として、合成例4で合成したCHP10を水に溶解させて得た10重量%のCHP10水溶液10gと、5重量%の(ポリエチレングリコール-ポリプロピレングリコール)ブロック共重合体水溶液(共重合体の重量平均分子量は12860)10gとからなるハイドロゲル用組成物を調製した以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0057】実施例1-5：<CHP15と(PEG-PPG)ブロック共重合体からなるハイドロゲルの調製>

CHP0.9を、合成例5で得られたCHP15に換えた以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0058】実施例1-6：<CHMと(PEG-PPG)ブロック共重合体からなるハイドロゲルの調製>

CHP0.9を、合成例6で得られたCHMに換えた以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0059】実施例1-7：<TSPと(PEG-PPG)ブロック共重合体からなるハイドロゲルの調製>

CHP0.9を、合成例7で得られたTSPに換えた以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0060】実施例1-8：<CHP0.9と2-メタ

クリロイルオキシエチル-2'- (トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート単独重合体からなるハイドロゲルの調製>

(PEG-PPG)ブロック共重合体を2-メタクリロイルオキシエチル-2'- (トリメチルアンモニオ)エチルホスフェート単独重合体(MTEと略す、重合体の重量平均分子量は1030000)に換えた以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0061】比較例1-1：<CHP0.9とPEG10000からなるハイドロゲルの調製>

ハイドロゲル用組成物として、合成例1で合成したCHP0.9を水に溶解させて得た10重量%のCHP0.9水溶液10gと、5重量%のポリエチレングリコール10000(製品名、関東化学株式会社製)水溶液10gとからなるハイドロゲル用組成物を調製した以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0062】比較例1-2：<プルランと(PEG-PPG)ブロック共重合体からなるハイドロゲルの調製>

CHP0.9を市販のプルラン(平均分子量、108000、和光純薬社製)に換えた以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0063】比較例1-3：<CHP0.9とアクリル酸単独重合体からなるハイドロゲルの調製>

(PEG-PPG)ブロック共重合体を市販のアクリル酸単独重合体(平均分子量、1000000)に換えた以外は、全て実施例1-1と同様に行った。結果を表1に示す。

【0064】実施例2

4. ハイドロゲル用組成物の保湿性評価

実施例1-1で使用したハイドロゲル用組成物と同様のものを用いて、以下の試験を行った。試験は、日本油化学会誌 Vol. 48 (p577, 1999)を参考にした生体負荷試験であり、ハイドロゲル用組成物を混合した直後の、流動性のある状態のハイドロゲル用組成物を用いて行った。即ち、混合したハイドロゲル用組成物をヒトの左前腕内側に0.2g付着させ、直径約3cmに広げて塗り、塗布50分経過後、塗布部位を水洗した直後、水洗後2時間経過後の3回皮膚の水分量を測定した。測定は、3.5MHz高周波電気伝導度測定装置(IBS社製)を用いて行った。試験は5検体の平均で行い、結果はハイドロゲル用組成物塗布前の水分量を1として対比で評価した。対照として、ハイドロゲル用組成物を塗布しない皮膚表面の水分量も測定した。これらの結果を表2に示す。

【0065】

【表2】

23
表 2

試験操作	皮膚の保湿度 (相対値)	
	ハイドロゲル無塗布表面	ハイドロゲル塗布表面
50分後	1.00	1.90
皮膚水洗後	1.55	2.25
水洗後2時間経過後	1.15	2.40

【0066】表2の結果より、ハイドロゲル用組成物の皮膚表面への塗布により、皮膚自身の水分保持能の向上が確認され、化粧品用保湿剤としての効果が確認された。

【0067】実施例3

5. ハイドロゲル用組成物の皮膚貼付材 (創傷被覆材) の調製及び評価

実施例1-1で使用したハイドロゲル用組成物と同様のものを用いて、以下の皮膚貼付材 (創傷被覆材) の調製及び試験を行った。まず、ハイドロゲル用組成物の混合時に、日本薬局方ガーゼも同時に浸して溶液を吸収させた後、ゲル化が完了する前にガーゼを引き上げた。次に、ガーゼを90℃で2時間、続いて110℃で1時間加熱乾燥してハイドロゲル含有ガーゼを作製した。次いで、得られたハイドロゲル含有ガーゼを生理食塩水で15分間膨潤させてから得られたガーゼの創傷被覆能を以*

表 3

	経過日数				
	1	2	3	4	5
ハイドロゲル含有ガーゼ	1.2	0.8	0.4	0.2	0.2
未処理ガーゼ	2.4	2.6	2.8	2.6	2.4

【0070】表3の結果より、ハイドロゲルを形成させたガーゼでは、未処理ガーゼに比べ、血液凝固成分の固着が未然に防ぐことができ、創傷面の出血が防げることが確認された。

【0071】実施例4

7. ハイドロゲルをコーティングした医療用具の血液適合性評価

実施例1-1で使用したハイドロゲル用組成物と同様のものを用いて、以下のハイドロゲルコーティングガイドワイヤーの調製及び試験を行った。まず、ハイドロゲル用組成物を水で10倍に希釈し、混合後、予め15分間0.1N-NaOHで処理したウレタン表面を有する医療用ガイドワイヤーにコーティングした。得られたコーティングガイドワイヤー又は未コーティングガイドワイヤーを90℃で3時間加熱乾燥した。コーティングガイ

* 下の方法で評価した。結果を表3に示す。

【0068】6. 創傷被覆能評価

試験動物として、ddymマウス (雌性、6加齢、体重25~30g) 1群5匹を用い、ネンプタル麻酔下に剃毛し、背部正中線上の皮膚に、外科手術用ハサミを用いて、全層皮膚欠損創を作成した。開放創作成後、直ちに上記ハイドロゲル含有ガーゼを貼付し、外側を伸縮性包帯で固定した。欠損創作成後、毎日1回新しい被覆材に交換し、交換時に被覆材を剥離した際の出血の程度を4段階 (0:出血無し、1:軽微な出血あり、2:中程度の出血あり、3:顕著な出血あり) 評価し、5匹の平均値を肉眼的所見で評価した。比較対照としては、未処理の日本薬局方ガーゼを生理食塩水で15分間膨潤させてから同様な評価を行なった。

【0069】

【表3】

ドワイヤーの表面には、ハイドロゲルの乾燥被膜が形成されていた。各々のガイドワイヤーを2cmにカットし、2mLのポリプロピレン製蓋付きチューブに入れ、試験直前まで0.1Mのリン酸緩衝液を入れて保存した。次いで、血液適合性評価として血小板粘着試験を以下の方法に従って行った。まず、0.1重量%クエン酸ナトリウム水溶液をウサギ血液に対して1容量%加え、37℃で静置し、2時間以内に以下の試験が終了するように使用した。

【0072】次に、上記ポリプロピレン製蓋付チューブ内からリン酸緩衝液のみを取除き、上記各ガイドワイヤーが入ったチューブ内に上記希釈多血小板血漿を入れ、37℃で15分間静置した。次いで、ガイドワイヤーを取出し0.1M-リン酸緩衝液で軽く洗浄し、続いて0.1重量%のグルタルアルデヒド水溶液で付着した血

小板を固定化し、エタノール／水混合液で洗浄し、風乾した。得られた各ガイドワイヤー表面の血小板の付着数を、走査型電子顕微鏡（日本電子（株））にて観察し、未コーティングガイドワイヤーとコーティングガイドワイヤーとでの比較を行った。

【0073】その結果、血小板の付着は、未コーティングガイドワイヤーで多く見られ、また、付着している血小板の形態も、未コーティングガイドワイヤーで変形（＝活性化状態）しているものが多く見られた。即ち、未コーティングガイドワイヤーに比べ、コーティングガイドワイヤーの方が良好な血液適合性を示した。

【0074】実施例5

8. ハイドロゲルコーティング臨床検査機器の製造

実施例1-1～1-8で使用したハイドロゲル用組成物と同様のものを用いて、以下のハイドロゲルコーティングマルチプレートの調製を行った。まず、ハイドロゲル用組成物を水で20倍に希釈し、混合しながら、スチレン基材の96穴マルチプレートの各ウェルに300μLずつ加えた。このプレートを60℃で24時間風乾し、各ウェルの表面にハイドロゲルの乾燥被膜を形成し試験用のプレートとした。いずれのハイドロゲル用組成物を用いた場合でも、外観上問題ないハイドロゲルコーティングマルチプレートが得られることを確認した。また、安定性について確認を行ったところ、良好な結果が得られた。

【0075】実施例6

9. ハイドロゲルを用いたタンパク質の内包と除去
合成例1で合成したCHP0.9を用いて、5重量%のCHP0.9水溶液9gを調製した。これに、濃度40mg/mLの牛血清アルブミン2mLを入れ、続いて、5重量%の（PEG-PPG）ブロック共重合体水溶液（共重合体の重量平均分子量は12860）9gを加え、軽く振とうさせて牛血清アルブミン内包のハイドロゲルを調製した。次いで、分子量分画120000の透析膜に得られたゲルを入れ、200mLの100mM-リン酸緩衝液中に浸漬し、37℃で1時間毎に透析外液を採取し、ハイドロゲルからのアルブミンの放出をニンヒドリン法により定量的に評価した。比較対照サンプルとして、2mLの牛血清アルブミン溶液を18mLの100mM-リン酸緩衝液そのまま透析膜に入れたもの、ならびに1重量%アガロースゲル20gに牛血清アルブミン80mgを内包させたものを用いた。リン酸緩衝液中でのハイドロゲルの緩やかな崩壊に伴い、牛血清アルブミンの放出が確認され、8時間後では牛血清アルブミン溶液をそのまま透析膜に入れたものの24%ならびにアガロースゲル中に牛血清アルブミンを内包させたものの80%のアルブミン放出量を示し、アルブミンを内包させた本発明のハイドロゲルにより、タンパク質の徐放速度が制御されることが明らかとなった。

【0076】実施例7

10. ハイドロゲルを用いた安定化酵素組成物

合成例1で合成したCHP0.9を用いて、5重量%のCHP0.9水溶液を調製した。これをダルベッコリン酸緩衝生理食塩液で希釈しpH7.4とし、2重量%のCHP0.9溶液を調製した。この溶液に、西洋ワサビペルオキシダーゼ（以下HRPと略す）を1.33μg/mLとなるように溶解し、酵素含有溶液を得た（以下、酵素溶液1と称する）。一方、5重量%の（PEG-PPG）ブロック共重合体水溶液（共重合体の重量平均分子量は12860）を調製し、これをダルベッコリン酸緩衝生理食塩液で希釈し（約pH4.0）、2重量%のアクリル酸単独重合体溶液を調製した（以下、溶液2と称する）。酵素溶液1と溶液2とを、質量比が3:1となるよう混和し、ゲル中に酵素が内包された、安定化酵素組成物を調製した。この安定化酵素組成物は37℃で保存した。調製直後、2日後、3日後及び6日後に、安定化酵素組成物の一部を取り、9倍容量のダルベッコリン酸緩衝生理食塩液（pH7.4）で希釈してゲルを溶解し、HRPの活性を測定した。活性の測定は、2,2'-アジノージ（3-エチルベンツチアゾリン-6-スルホネート）を基質として用い、波長405nmにおける比色により行った。安定化酵素組成物調製直後に取った試料における酵素活性に対する、それぞれの試料における酵素活性の百分率を求めた。結果を表4に示す。

【0077】

【表4】

表4

経過日数	酵素活性 (%)			
	0日	2日	3日	6日
実施例6	100	98	90	82
比較例2	100	0	0	0

【0078】比較例2

HRPを、ダルベッコリン酸緩衝生理食塩液（pH7.4）に、濃度が1μg/mLとなるよう溶解し、HRP溶液を調製した。調製直後、2日後、3日後及び6日後に、このHRP溶液の一部を取り、9倍容量のダルベッコリン酸緩衝生理食塩液（pH7.4）で希釈し、実施例7と同様にHRPの活性を測定した。HRP溶液調製直後に取った試料における酵素活性に対する、それぞれの試料における酵素活性の百分率を求めた。結果を表4に示す。

【0079】以上の結果より本発明の実施例のゲル及びゲル組成物は、各用途において比較例に比べて、優れた効果を有することがわかる。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷

識別記号

A 6 1 K 47/34
47/36

A 6 1 L 15/44

A 6 1 M 1/16

A 6 1 P 17/16

C 0 8 L 71/02

101/00

C 1 2 N 9/96

5 0 0

F I

A 6 1 K 47/34
47/36

A 6 1 M 1/16

A 6 1 P 17/16

C 0 8 L 71/02

101/00

C 1 2 N 9/96

A 6 1 L 15/03

テーマコード (参考)

4 J 0 0 2

5 0 0

F ターム (参考) 4B050 CC07 DD13 HH04 KK15 KK16
 LL01 LL10
 4C076 AA74 BB31 DD70 EE01 EE30
 EE56 FF02 FF57
 4C077 AA05 BB01 KK03 PP01
 4C081 AA03 AA12 BA03 BB01 CA291
 CB041 CC02 CC03 CD011
 CD34 CE02 DA12 DC12
 4C083 AA021 AD011 AD052 AD491
 AD492 BB60 CC01 CC02
 DD41 EE12 FF01
 4J002 AB01W BG01X BG04X BG07X
 BG13X BJ00X CH02X DE026
 GB00